

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen
Direktor: Prof. Dr. N. Henning

**Tierexperimentelle Untersuchungen
zur Frage der Resorption von β -Sitosterin**

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu

Erlangen

1960

Vorgelegt von
Peter Engelhardt
aus Fürth

Dekan: Prof. Dr. F. Heim

Referent: Prof. Dr. N. Henning

Tag der mündlichen Prüfung: 23. Juli 1959



Sonderdruck aus:

» **ARZNEIMITTEL-FORSCHUNG** «
» **DRUG RESEARCH** «

Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) **10**, 491–496 (1960)

Editio Cantor / Aulendorf i. Württ.

Aus der

Medizinischen Universitätsklinik Erlangen;

Direktor: Professor Dr. N. Henning

**Tierexperimentelle Untersuchungen
zur Frage der Resorption von β -Sitosterin**

Von

Harald Schön und Peter Engelhardt





Digitized by the Internet Archive
in 2026

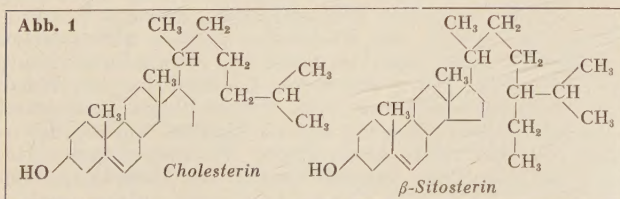
Tierexperimentelle Untersuchungen zur Frage der Resorption von β -Sitosterin

Von Harald Schön und Peter Engelhardt*)

Peterson u. Mitarb. [1] berichteten 1951 über Untersuchungen, die an weißen Leghorn-Küken mit gemischten Soja-Sterinen und Sitosterin ausgeführt wurden. Das Ergebnis war, daß diese Sterine eine, sonst immer bei der Fütterung mit Cholesterin auftretende Hypercholesterinämie verhinderten. Bei den nur mit Cholesterin gefütterten Tieren fand sich eine Verfettung der Leber mit Erhöhung des Cholesterin-Gehaltes. Die Werte der zusätzlich noch mit Soja-Sterinen gefütterten Küken lagen nur wenig über denjenigen der Kontrolltiere. Daraus schloßen sie, daß Soja-Sterine und Sitosterin die Resorption von Cholesterin einschränken.

In einem weiteren Versuch variierten die gleichen Autoren die Konzentration sowie Art und Weise der Zugabe von Soja-Sterinen [2]. Es zeigte sich, daß die Zugabe von 1% Soja-Sterinen zu 0,5% Soja-Lecithin und 1% Cholesterin einen Anstieg des Cholesterins im Serum verhinderte. Eine optimale Wirkung auf die Herabsetzung des Cholesterin-Spiegels im Serum zeigte sich, wenn das Verhältnis von Soja-Sterin zu Cholesterin 2 : 1 oder 3 : 1 betrug. Nachdem Siperstein [3] zeigen konnte, daß geringfügige Abweichungen eines Sterin-Moleküls von der Struktur des Cholesterins vermutlich eine Hemmung der Cholesterin-Resorption hervorrufen können, untersuchten Peterson u. Mitarb. die dem Cholesterin nahe verwandten Sterine Ergosterin, Stigmasterin und β -Sitosterin.

Siperstein konnte durch Verabreichung von Dihydrocholesterin eine Erhöhung des Cholesterin-Spiegels im Serum bei Fütterung mit Cholesterin wirksam verhindern. Das gleiche Ergebnis erzielten



*) (D 29).

Peterson u. Mitarb. für die genannten Substanzen. (Strukturformeln der einzelnen Sterine siehe Abb. 1.)

Alle genannten Verbindungen besitzen eine Hydroxylgruppe in β -Stellung am C_3 -Atom (siehe Abb. 1). Peterson konnte zeigen, daß eine Veresterung der Hydroxyl-Gruppe die resorptionshemmende Wirkung der Pflanzen-Sterine beim Huhn aufhebt, aber auch die Resorbierbarkeit des Cholesterins herabsetzt. Der Effekt auf den Sterin-Spiegel im Serum fällt mit der Kettenlänge der veresterten Fettsäuren ab [4]. Er kam zu dem Schluß, daß die Hemmung der Cholesterin-Resorption durch die Pflanzen-Sterine auf einer Hemmung eines Cholesterinesterasen-Systems beruht. In einer kürzlich erschienenen Arbeit untersucht Peterson [5] den Einfluß der Pflanzen-Sterine bei einer länger dauernden Fütterungsperiode auf die Entstehung einer Atheromatose bei mit Cholesterin gefütterten Leghorn-Küken. Makroskopisch fand man eine Atheromatose nur bei den mit Cholesterin gefütterten Tieren. Zugabe von Soja-Sterinen bewirkte eine signifikante Verringerung des Auftretens atherosklerotischer Veränderungen der Intima in der Brust- und Bauch-Aorta. Wesentlich erscheinen auch die Untersuchungen von Clarkson [6] über die Resorption von Cholesterin unter dem Einfluß von Soja-Sterinen und Gallogen[®] *).

Es wirkt als echtes Cholereticum. Alleine gegeben, erniedrigte es das Cholesterin im Serum von Leghorn-Küken; zusammen mit Soja-Sterinen konnte eine Potenzierung der Wirkung der Soja-Sterine erreicht werden. Der Mechanismus, durch den Gallogen die Wirkung der Soja-Sterine verstärkt, ist unbekannt, doch nimmt Clarkson an, daß die Cholerese für die den Cholesterin-Spiegel im Serum senkende Wirkung in Frage kommen könnte.

Ähnliche Ergebnisse wie im Tierversuch konnten auch beim Menschen erzielt werden. Farquhar [7] untersuchte die Wirkung oral gegebenen β -Sitosterins an 15 Männern mit Atherosklerose, normalem Blutdruck und ohne Diabetes mellitus. Zu Beginn der Untersuchung zeigten alle Patienten eine Erhöhung des Cholesterins, der β -Lipoproteide und des Gesamtfettes im Serum. Als Kontrolle dienten gleichaltrige gesunde Männer. Nach der Gabe von β -Sitosterin konnte ein Abfall der Werte des Serum-Cholesterins, der Werte der β -Lipoproteide und des Gesamtfettes beobachtet werden. Daneben machte sich ein leichter Anstieg der α -Lipoproteide bemerkbar. Diese Veränderungen blieben während der ganzen Dauer der Medikation be-

*) Monocamphersäureester des p-a-4-Dimethylbenzylalkohols (To-camphyl).

stehen. Da keine toxischen Nebenwirkungen durch Sitosterin auftreten, empfehlen die Untersucher die Verwendung des β -Sitosterins zur Therapie der Hypercholesterinämie. Von anderer Seite werden ähnliche Ergebnisse berichtet [8–10]. Best [10] behandelte Patienten (Hypothyreosen, Hypercholesterinämien und Myocardinfarkt) mit einer durchschnittlichen Tagesdosis von 18–24 g Sitosterin. Er fand eine Erniedrigung des Cholesterins im Serum von durchschnittlich 15,5%, der Gesamtfette von durchschnittlich 13,8%. Auch hier werden keine toxischen Nebenwirkungen des Sitosterins angegeben.

Peterson nimmt an (s. o.), daß ein oder mehrere Bestandteile der Soja-Sterine mit der Cholesterin-Resorption interferieren und so eine Senkung des Cholesterin-Spiegels im Serum bewirken. Diese Meinung wird von Ivy [11] geteilt, der nach Verfütterung von Dihydrocholesterin unter bestimmten Bedingungen eine Verringerung der Cholesterin-Resorption um nahezu 40% fand. Eine ähnlich große Verminderung der Resorptionsquote durch Soja-Sterine führt er auf die Beanspruchung eines Teiles des Resorptionsmechanismus des Cholesterins zurück. Welcher Art nun die Resorptionshemmung im einzelnen ist, darüber gehen die Meinungen auseinander.

Davis [12] nimmt die Bildung einer Kristallmischung von Sitosterin und Cholesterin an. Seiner Meinung nach wird Cholesterin dadurch im Darm in eine schlechter lösliche Form gebracht. Er untersuchte die Löslichkeit von Cholesterin und Sitosterin in verschiedenen Lösungsmitteln. Dabei fand er in Methanol bei 25° C eine für Cholesterin charakteristische Löslichkeit von 6 mg/ml, für Sitosterin von 2 mg/ml. Diese Unterschiede führt er auf die verschiedenen Kristallgitterenergien beider Stoffe zurück. Beim Auskristallisieren einer Mischung gewichtsgleicher Mengen von Cholesterin und Sitosterin erhielt er ein Mischkristall mit der Löslichkeit von 2,4 mg/ml in Methanol bei 25° C. Dieser Mischkristall erwies sich bei der Untersuchung durch Röntgenstrahlen als völlig verschieden von den beiden anderen Kristallformen. Da nun der erste Schritt zur Resorption von Cholesterin in der Bildung einer kolloidalen Dispersion besteht und Sitosterin ebenfalls dispersibel ist, kann sich bei einem Überschuß von fein verteiltem Sitosterin ein solcher Mischkristall bilden und das Ausmaß der Cholesterin-Resorption vermindern. Peterson nimmt eine Cholesterinesterase-Hemmung an. Im Gegensatz dazu fanden aber Daskalakis u. Chaikoff [13], daß bei der Ratte, ohne Rücksicht auf die Resorptionsquote des Cholesterins, immer 70% des resorbierten

Cholesterins den Ductus thoracicus in veresterter Form erreichten. Diese Untersuchungen wurden unter Verwendung von Dihydrocholesterin und Sitosterin als resorptionshemmende Substanzen ausgeführt. Die Autoren vermuten, daß die Hemmung der Cholesterin-Resorption auf einer Stufe eintreten müsse, die noch vor dem Schritt der Veresterung liege. Nur wenige Untersucher der jüngsten Zeit haben einige Resorptionsversuche angestellt; vielmehr beziehen sie sich auf Feststellungen von Schönheimer [14], daß Phytosterine vom tierischen Organismus nicht resorbiert werden.

Schönheimer führte Speicherungsversuche mit Sitosterin aus und fand nach 3monatiger Versuchsdauer bei Kaninchen keine anisotrope Verfettung der Leber. Bei den mit Cholesterin gefütterten Kontrolltieren sah er eine Ablagerung anisotroper Fett-Tropfen in der Leber. Die chemische Untersuchung ergab, daß es sich bei diesen um Cholesterinester handelte. Im gleichen Versuch fütterte er 9 Kaninchen zwischen 41 und 280 Tagen mit einer 5%igen Lösung von Sitosterin in Olivenöl mittels Schlundsonde. Auch hier konnte er keine Speicherung des Sitosterins finden. Bei den unter den gleichen Bedingungen mit Cholesterin gefütterten Kontrolltieren beobachtete er nach Beendigung des Versuches eine sogenannte Cholesterin-Krankheit (n. Verse). Seiner Meinung nach haben diese Ergebnisse folgende mögliche Ursachen:

1. Sitosterin wird überhaupt nicht resorbiert.
2. Sitosterin wird zwar resorbiert, aber so schnell wieder ausgeschieden, daß es mit den zur Verfügung stehenden analytischen Methoden nicht erfaßbar ist.

Die Umwandlung der Sterine in Cholesterin oder in ein Zwischenprodukt des Cholesterin-Stoffwechsels bei der Resorption hält er zwar für möglich, doch lehnt er eine Ablagerung nicht umgewandelter Phytosterine im tierischen Organismus ab.

Das Kriterium für die Resorption eines Stoffes ist im allgemeinen das Verschwinden einer gewissen Substanzmenge im Bilanzversuch und der Nachweis ihrer Ablagerung im Gewebe [15]. Bei seinen Bilanzversuchen ging Schönheimer von der Tatsache aus, daß pflanzliche Sterine im tierischen Organismus nicht gespeichert werden. Zwei Kaninchen wurde Cholesterin und Sitosterin in Pillen zu je 50 mg verabreicht. Die Versuchsdauer betrug jeweils 3 Tage. In der zweiten Hälfte der Versuche wurden 10 ml Triolein als Fettzulage gegeben. Daraufhin stieg die Sterin-Ausscheidung leicht an. Bei den mit Cholesterin gefütterten Tieren erhielt er 54,58 bzw. 45,46%, bei

den mit Sitosterin gefütterten 94,15 bzw. 99,73% Ausscheidung. Demnach erschienen beim Kaninchen die gefütterten Pflanzen-Sterine innerhalb der Fehlergrenzen quantitativ im Kot wieder. Die Bestimmung der Sterine im Kot erfolgte nach der üblichen Digitonin-Fällungsmethode von Windaus u. Authenrieth [16].

Diesen Angaben stehen nun die Ergebnisse anderer Autoren gegenüber. Ivy [11] fand neben der Resorption von Dihydrocholesterin auch eine Resorption von Soja-Sterinen von nahezu 22%. Der Sterin-Gehalt im Serum war durch die Fütterung von Soja-Sterinen erhöht. Daneben ergab sich eine Verminderung der Resorptionsquote des Cholesterins um fast 40%.

Fast gleichzeitig fanden Gould u. Mitarb. [17] eine wesentlich geringere Resorption von Sitosterin (8%) bei Ratten. Sie verfolgten den Stoffwechsel des Sitosterins und des Cholesterins mit Hilfe von Tritium-markierten Sterinen. Die Verteilung des Sitosterins im Körper gleicht der des Cholesterins. Im Blut fanden sich 1%, in der Leber 1—2%, im Darm 2% und im übrigen Organismus 4—6% des mit der Nahrung zugeführten Tritium-Sitosterins. Das Verhältnis der Resorptionsquoten von Cholesterin und Sitosterin betrug 10 : 1. Gould konnte zeigen, daß Sitosterin den Körper schneller als Cholesterin verläßt. Der Austausch von Erythrocyten-Sitosterin gegen Plasma-Sitosterin ging nicht so leicht vonstatten, wie dies beim Cholesterin der Fall war. Durch Versuche mit Tritium-Sitosterin und mit C¹⁴-markiertem Acetat glauben Gould u. Mitarb. nachweisen zu können, daß die depressorische Wirkung des Sitosterins auf das Plasmacholesterin nicht auf einer Hemmung der Cholesterin-Synthese in der Leber beruht. Die selektive Ausscheidung von Sitosterin und seiner Abbauprodukte soll über die Galle erfolgen. Swell u. Mitarb. [18] konnten ebenfalls eine gewisse Resorption von Pflanzen-Sterinen bei der Ratte finden. Sie verwendeten allerdings im Futter neben freien Fettsäuren auch noch Gallensäuren. Sie verabreichten 25% Ölsäure, 1% Na-Taurocholat und 2% Soja-Sterine. Bei fettfreier Nahrung fanden sie die gefütterten Pflanzen-Sterine quantitativ in den Faeces wieder. Wurden 2% Soja-Sterine und 1% Na-Taurocholat gefüttert, so resultierte eine Resorption der Soja-Sterine von 15,7% = 25 mg/Tag. Bei alleinigem Zusatz von 25% Ölsäure und 2% Soja-Sterin zum Futter fanden sie eine Resorption von 15,5% = 24 mg/Tag. Die höchsten Resorptionswerte ergaben sich bei der Kombination von 25% Ölsäure, 1% Na-Taurocholsäure und 2% Soja-Sterinen. Hier war das Ausmaß der Resorp-

tion 22,9⁰% = 40 mg/Tag, lag also in der Größenordnung der von Ivy gefundenen Werte. Die Leber-Sterine zeigten dabei keine wesentlichen Veränderungen, die Sterin-Werte im Serum, bezogen auf Cholesterin, waren jedoch immer erhöht. Alle diese Arbeiten stimmen darin überein, daß Pflanzen-Sterine nicht, oder nur zu einem geringen Prozentsatz resorbiert werden. Wegen der Reizwirkung der freien Fettsäuren auf den Magen-Darm-Trakt der Versuchstiere und wegen der Kurzfristigkeit der meisten Untersuchungen schien es uns notwendig, die Ergebnisse der Versuche mit pflanzlichen Sterinen, besonders aber mit β -Sitosterin, an Hand eines größeren Tiermaterials und längerer Versuchsperioden zu überprüfen, insbesondere die Frage der Resorption und der Beeinflussung der Cholesterin-Synthese.

Methodik

1. Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten männliche Sprague-Dawley-Ratten (S-D-Ratten) von 100–150 g Gewicht, die in Einzelkäfigen mit Drahtgittereinsatz gehalten wurden. Der Einsatz in den Käfigen lag etwas über dem Niveau des Käfigbodens, so daß die Exkremeate dem Zugriff der Tiere entzogen waren. Wasser wurde ad libitum verabreicht.

2. Versuchsfutter

Als Grundfutter verwendeten wir ein Gemisch von:

120 g Gelatine	10 g Weizenkeimöl
80 g Casein, vitaminfrei	10 g Vitaminpulver
40 g Salzmischung für Ratten	200 g Olivenöl bzw. Palmin
50 g Zellulosepulver	490 g Zucker

Bei Zusätzen von β -Sitosterin*), Artischockenpulver, Phenyläthyl-essigsäure, Diphenyläthyl-essigsäure und Cholesterin, wurde der Zuckeranteil des Grundfutters entsprechend vermindert.

β -Sitosterin wurde entweder als 20%ige wäßrige Emulsion*) dem Futter beigegeben oder in kristalliner Form in dem jeweiligen Fettanteil des Grundfutters gelöst. Die Sitosterin-Emulsion ist durch folgende Daten charakterisiert: Schmelzpunkt des extrahierten Sterins: 113–115° C;

gravimetrischer Sterin-Anteil: 20,42%;

kolorimetrischer Sterin-Anteil: 16,54%.

Extinktion mg/ml (Tschugaeff-Reaktion [19, 20]).

Kristallines Sitosterin wurde durch Extinktion der wäßrigen Emulsion hergestellt.

Bei Bilanzversuchen wurde die tägliche Futtermenge für jedes Tier gewogen und mit etwas Wasser zu einer dicken Paste vermischt, um Verluste durch Verstreuen zu vermeiden. Rückwägung des nicht verzehrten Futters nach Trocknung.

3. Analytik

Bei den Untersuchungen über die Resorption von β -Sitosterin sammelten wir den Kot jedes Tieres täglich in Flaschen, und trockneten ihn bei 65–70° C. Der Kot des ersten Versuchstages wurde regelmäßig verworfen, um eine Sterin-Ausscheidung auf Grund des vorausgegangenen, unkontrollierten Futters nicht mitzubestimmen. Vom getrockneten 7-Tage-Kot eines jeden Tieres wurde ein aliquoter Teil aufgearbeitet. Zu Ende eines Versuches, in der Regel nach 21 Tagen, wurden die Tiere in leichter Äther-Narkose getötet. Nach Dekapitation und Ausbluten wurden die Lebern herauspräpariert und in

*) Für die großzügige Überlassung der Sitosterin-Emulsion danken wir der C. H. Boehringer & Soehne, G.m.b.H., Mannheim.

„feuchte Kammern“ gelegt, um einen Flüssigkeitsverlust zu vermeiden.

a) Aufarbeitung des Kotes

Der gesamte Kot eines jeden Tieres wurde nach dem Wiegen pulverisiert; ein aliquoter Teil (Doppelbestimmung) zwischen 400 und 500 mg, wurde in vorgewogene Reagensgläser mit Schliffstopfen überführt. Nach Feststellung der Einwaage wurden sie mit 4 ml 35%iger Kalilauge und 4 ml 96%igem Äthanol versetzt. Die Reagensgläser kamen mit locker aufgesetztem Stopfen in ein Wasserbad von 70° C und verblieben dort zur Verseifung 4–5 h. Nach dem Abkühlen wurde das Unverseifbare 3mal mit 5 ml niedrig siedendem (30–40° C) Petroläther (Merck) extrahiert. Nach der Phasentrennung überführten wir den Petroläther mittels eines Hebersystems in einen Scheidetrichter. Der Petroläther wurde mit doppelt destilliertem Wasser gewaschen. Den gereinigten Petroläther überführten wir quantitativ in vorbereitete Erlemeyerkölbchen. Im Verdampfungsapparat nach H e c k e r wurde der Petroläther im Stickstoffstrom verjagt und der Rückstand des Unverseifbaren im Exsiccator über konz. Schwefelsäure getrocknet. Dieser Extrakt wurde in 20 ml gewaschenem, redestilliertem Chloroform (DAB. 6, Merck) gelöst und davon ein aliquoter Teil von 2 ml in trockene Meßkölbchen von 10 ml Inhalt überführt und die Farbreaktion nach T s c h u g a e f f [19] ausgeführt. (Auch mit dieser Reaktion kann man, genau wie mit den sonst üblichen Sterin-Bestimmungsmethoden, Sitosterin nicht von Cholesterin trennen.)

Wir gaben eine frisch zubereitete Lösung von 2:1 v/v 20%igem Zinkchlorid sicc. (p. A. Merck) in 96–100%iger Essigsäure (Merck) und Acetylchlorid (p. A. Merck) hinzu und stellten das Ganze für 3 h ins Dunkel [20]. Nach Auffüllen mit 5 ml redestilliertem Chloroform wurde die Extinktion im Stufenphotometer bei 520 m μ und 1 cm Schichtdicke abgelesen. Jedem Ansatz liefen 2 Kontrollen mit 0,1 mg Cholesterin/10 ml parallel.

B e r e c h n u n g der mit dem Kot ausgeschiedenen Sterin-Menge:

$$\frac{\text{Abgelesene Extinktion}}{\text{Kontrollextinktion}} \times 10 \text{ (aliquoter Teil)}$$

in Beziehung setzen zur Einwaage.

b) Aufarbeitung der Lebern

Bestimmung des Lebersterins: Die Lebern wurden nach Entfernung anhängender Teile im Homogenisator nach S p e r r y [21] zerkleinert und etwa 500 mg mit einer Meßpipette in vorgewogenene, trockene Reagensgläser mit Schliffstopfen gebracht. Das Leberhomogenat wurde wie bei der Kot-Aufarbeitung geschildert weiterbehandelt. Die erhaltenen Werte für den Sterin-Gehalt der Lebern bezogen wir immer auf 100 g Leber-Frischgewicht.

Bestimmung des Fettgehaltes der Lebern: Etwa 500 mg des Homogenats wurden in trockene, vorgewogene Meßkölbchen von 25 ml Inhalt überführt. Nach Bestimmung der Einwaage wurden sie mit ca. 10 ml Aceton (p. A. Merck) kurz aufgeschüttelt um eine innige Durchtränkung des Leberhomogenats mit dem Trockenmittel zu erreichen. Das Aceton wurde im Verdampfungsapparat verjagt und die Kölbchen im Exsiccator getrocknet. Nach der Feststellung des Trockengewichtes versetzten wir den Rückstand mit einer Mischung von 1:2 v/v Methanol-Chloroform. Das ganze wurde zur Extraktion des Fettes unter ständigem Schütteln im Wasserbad kurz aufgeköcht. Nach dem Abkühlen wurde mit dem gleichen Gemisch von Chloroform-Methanol bis zur Marke aufgefüllt.

Die 25 ml des gelösten Leberfettes filtrierte man durch ein Faltenfilter (S & S 588) und überführte 20 ml des Filtrates in Verdampfungskölbchen. Nach Verdampfen des Lösungsmittels wurde im Exsiccator getrocknet. Das zurückbleibende Fett überführten wir nach Auflösung in Methanol-Chloroform in vorgewogene Meßkölbchen von 5 ml Inhalt. Die Kölbchen wurden nach Verjagen des Lösungsmittels bis zur Gewichtskonstante getrocknet und ausgewogen.

Berechnung des Fettgehaltes der Lebern:

Gewicht der 5-ml-Kölbchen mit Inhalt

— Gewicht der 5-ml-Kölbchen ohne Inhalt

Differenz $\times 1,25$ (aliq. T.) = Fettgehalt der Probe

Der durch diese Rechnung erhaltene Fettwert für das eingewogene Leberhomogenat wurde immer auf 100 g Leber-Frischgewicht umgerechnet und in % ausgedrückt.

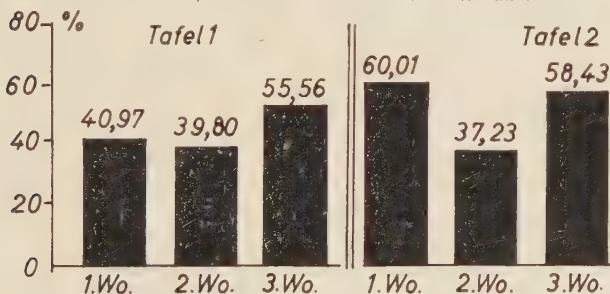
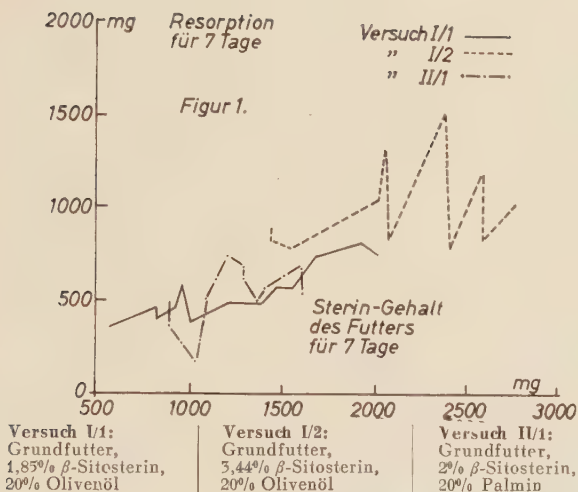
c) Aufarbeitung des Serums

1 ml Serum wurde jeweils in ein Meßkölbchen von 25 ml Inhalt überführt. Dann versetzten wir das Serum mit ca. 12 ml einer Mischung von Aceton-Äthanol im Verhältnis 1:1 v/v und kochten kurz im Wasserbad auf. Die Lösung wurde nach sorgfältigem Mischen filtriert und 2,5 ml des Filtrates in ein Zentrifugenröhrchen überführt (Doppelbestimmung). Das Aceton-Äthanol-Gemisch wurde im Wasserbad verdampft und der Rückstand im Trockenschrank ge-

Tab. 1

		Leber-Sterin mg%	Leber-Fett %	Serum-Sterin mg%	Futter-Sterin mg	Kot-Sterin mg	Resorption %
1. Versuch:							
Grundfutter,		454,50	22,23	88,76	1218,50	684,145	43,80
1,85% β -Sitosterin,	m.S.	195,00	12,52	14,80			10,08
20% Olivenöl	m.F.	61,70	5,60	8,45			1,87
2. Versuch							
Grundfutter,		494,10	14,23	87,58	2297,20	1107,041	52,80
3,44% β -Sitosterin,	m.S.	279,00	6,27	31,75			12,65
20% Olivenöl	m.F.	88,20	2,81	14,20			2,39
3. Versuch:							
Grundfutter,		572,15	13,62	87,91			
2% β -Sitosterin,	m.S.	82,00	6,43	29,80			
20% Olivenöl	m.F.	25,95	2,88	13,35			
4. Versuch:							
Grundfutter,		456,85	20,61	98,16			
2% β -Sistosterin,	m.S.	91,20	4,88	28,55			
20% Olivenöl	m.F.	30,40	2,44	12,78			
1. Kontrollversuch:							
Grundfutter,		584,93	23,73	49,55			
20% Olivenöl	m.S.	148,80	7,57	13,18			
	m.F.	37,18	3,09	4,17			
2. Kontrollversuch:							
Grundfutter,		852,90	15,78				
20% Olivenöl	m.S.	112,00	4,57				
	m.F.	50,10	2,45				
3. Kontrollversuch:							
Grundfutter,		712,90	15,32				
2% Artischockenpulver,	m.S.	278,00	10,69				
20% Olivenöl	m.F.	87,80	5,34				
4. Kontrollversuch:							
Grundfutter,		510,87	14,60	95,90			
20% Olivenöl	m.S.	36,15	8,26	29,80			
	m.F.	12,79	4,13	14,90			

Anmerkung:
m.S. = mittl. Streuung
m.F. = mittl. Fehler



Tafel 1 zeigt die Aufstellung der Sitosterin-Resorptionsquoten für je 7 Tage, bei einer Versuchsdauer von 21 Tagen.

Tafel 2 zeigt die Aufstellung der Sitosterin-Resorptionsquoten für je 7 Tage, bei einer Versuchsdauer von 21 Tagen.

trocknet. Es wurden nach Z a k [22] 2 ml Eisessig hinzugegeben und der Rückstand gelöst. Danach wurden unter ständigem Rühren mit dem Glasstab vorsichtig 3 ml des Farbgemisches nach Z a k zupipettiert. Die Extinktion des bei dieser Reaktion entstehenden Oxy-Cholesterins wurde im Stufenphotometer bei 560 m μ und der Schichtdicke 1 cm abgelesen. Jedem Ansatz liefen 2 Kontrollwerte mit 0,1 mg Cholesterin parallel.

Ergebnisse

Bilanz- und Speicherungsversuche I

In diesem Versuch verwendeten wir als Sterinzulage zum Grundfutter β -Sitosterin in verschiedenen Konzentrationen. Das Sterin wurde in Form einer 20%igen Emulsion und als kristalline Substanz gegeben. Als Fettzulage zum Grundfutter dienten 20% Olivenöl. Die Einzelversuche dauerten 21 Tage (n = 5). Ver-

such 3, der mit kristallinem Sitosterin ausgeführt wurde, dauerte aus äußeren Gründen nur 14 Tage.

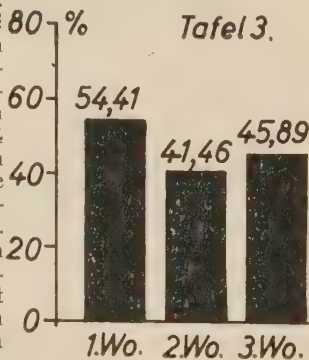
Es wurden die Speicherung des β -Sitosterins in der Leber, das Verhalten des Cholesterin-Spiegels im Serum und das Ausmaß einer möglichen β -Sitosterin-Resorption überprüft. Unter den beschriebenen Versuchsbedingungen fanden wir als wesentlichsten Punkt der Untersuchung eine wahrscheinliche Resorption des β -Sitosterins zwischen 40 und 50% (s. Tab. 1). Die Bestimmung der Sterin-Werte im Serum der mit β -Sitosterin gefütterten Tiere ergab signifikant erhöhte Werte gegenüber den Kontrollen und den Normalwerten. Bei den Kontrollversuchen mit Sterin-freiem Futter und 20% Olivenöl als Fettzulage konnten wir eine signifikante Erhöhung der Sterin-Konzentration in der Leber und eine statistisch gesicherte Erniedrigung der Sterin-Spiegel gegenüber den Versuchen mit Sterin-Zulage feststellen.

In Fig. 1 wird die vom Einzeltier in jeweils 7 Tagen resorbierte Sterin-Menge in Abhängigkeit von der mit Futter zugeführten Menge graphisch festgehalten.

Bilanz- und Speicherungsversuche II

Hier verwendeten wir wiederum β -Sitosterin in Form der 2%igen Emulsion als Sterin-Zulage zum Grundfutter. Die Fettkomponente bestand jedoch aus 2% Palmin® (gehärtetes, handelsübliches Kokosfett, Jodzahl 8—12, Verseifungszahl 255—265). Auch hier wurden die Speicherungsverhältnisse des β -Sitosterins in der Leber untersucht. In Versuch II/1 wurde das Ausmaß der β -Sitosterin-Resorption festgestellt.

Aus den Werten der Tab. 2 läßt sich entnehmen, daß auch bei Verwendung von Palmin β -Sitosterin resorbiert wird. Die Sterin-Werte der Leber lagen im Vergleich zu Versuch I/1—4 niedriger; dennoch zeigt sich der schon dort festgestellte niedrige Wert bei den Tieren mit Sitosterin-Zulage. Die Sterin-Werte im Serum waren sowohl bei den Kontrollen, als auch bei den mit Sterin gefütterten Tieren erhöht. In Tafel 3 werden wieder die Resorptionsquoten von β -Sitosterin unter den gegebenen Versuchsbedingungen für je 7 Tage aufgeführt.



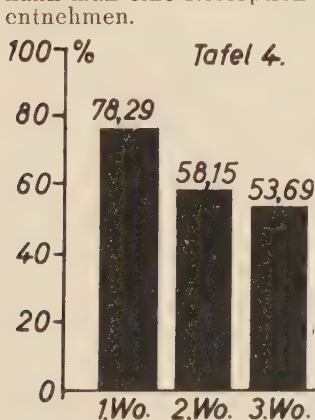
Tafel 3: Aufstellung der Sitosterin-Resorptionsquoten für je 7 Tage, bei einer Versuchsdauer von 21 Tagen.

Tab. 2

		Leber-Sterin mg%	Leber-Fett %	Serum-Sterin mg%	Futter-Sterin mg%	Kot-Sterin mg	Resorption %
1. Versuch:							
Grundfutter,		304,00	29,55	129,94	1233,33	670,30	45,60
2% β -Sitosterin,	m.S.	56,30	8,16	15,27			8,94
20% Palmin	m.F.	18,78	3,65	7,62			1,66
1. Kontrollversuch:							
Grundfutter,		423,60	15,29	21,40			
20% Palmin	m.S.	155,00	3,42	10,70			
	m.F.	40,65	1,53	121,55			

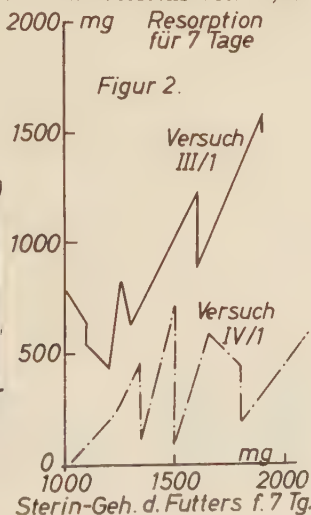
Bilanz- und Speicherungsversuche III

In dieser Versuchsreihe bestand die Sterin-Zulage zum Grundfutter aus kristallinem Cholesterin in verschiedenen Konzentrationen. Fettkomponente war wiederum Palmin. Phenyläthyllessigsäure und Diphenyläthyllessigsäure wurden wegen ihrer die Cholesterin-Synthese hemmenden Eigenschaft verabreicht [23—26]. Es wurden die Verhältnisse der Cholesterin-Resorption, des Cholesterin-Spiegels in der Leber und im Serum beobachtet. Aus Tab. 3 kann man eine Resorption des Cholesterins von 64,6% entnehmen.



Tafel 4: Aufstellung der Cholesterin-Resorptionsquoten für je 7 Tage, bei einer Versuchsdauer von 21 Tagen.

In Fig. 2 stellten wir die vom Einzeltier in 7 Tagen resorbierte Sterin-Menge in Abhängigkeit von der Sterinaufnahme graphisch dar.



Versuch III/1:
Grundfutter, 2% Cholesterin,
20% Palmin
Versuch IV/1:
Grundfutter, 2% β -Sitosterin,
1% Cholesterin, 20% Palmin.

Tab. 3

		Leber-Sterin mg/o	Leber-Fett o/o	Serum-Sterin mg/o	Futter-Sterin mg	Kot-Sterin mg	Resorption o/o
1. Versuch:							
Grundfutter,		2991,30	40,93	127,07	1450,00	506,21	64,60
2% Cholesterin,	m.S.	925,00	5,50	16,67			16,32
20% Palmin	m.F.	282,50	2,46	2,45			3,35
2. Versuch:							
Grundfutter,		1444,80		206,93			
1% Cholesterin,	m.S.	376,00		68,80			
20% Palmin	m.F.	118,90		21,40			
1. Kontrollversuch:							
Grundfutter,		360,88	19,07				
1% Phenyläthyl- essigsäure,	m.S.	187,50	10,00				
20% Olivenöl	m.F.	66,25	5,00				
2. Kontrollversuch:							
Grundfutter,		423,6	15,29	121,55			
20% Palmin	m.S.	155,00	3,42	24,58			
	m.F.	40,65	1,53	10,70			

Bilanz- und Speicherversuch IV

Bei dieser Untersuchung wurden Sitosterin und Cholesterin gemeinsam verfüttert. Die Sterin-Konzentrationen wurden in bezug auf die Gesamtsterine und auf das Verhältnis von Sitosterin zu Cholesterin variiert. Fettkomponente: 20% Palmin.

Es wurde versucht, festzustellen, ob Sitosterin die Cholesterin-Resorption beeinflusst, bei welchem Verhältnis von Cholesterin zu Sitosterin man eine optimale Wirkung von Sitosterin erwarten kann und welchen Einfluß das Pflanzen-Sterin bei gleichzeitiger Fütterung von Cholesterin auf den Sterin-Spiegel in Leber und Serum hat. (Tab. 4.)

Die Resorptionsquoten von Versuch IV/1 und IV/2 liegen mit 12,95 und 25,40% deutlich unter den bisher gefundenen Werten für die Resorption von Sitosterin und Cholesterin. Die Werte für das Serumsterin schwanken zwischen 82 und 99 mg/o, die des Lebersterins zwischen 318 und 680 mg/o.

In den Tafeln 5, 6, 7 und 8 findet man die Resorptionsquoten für die einzelnen Wochen der Versuche.

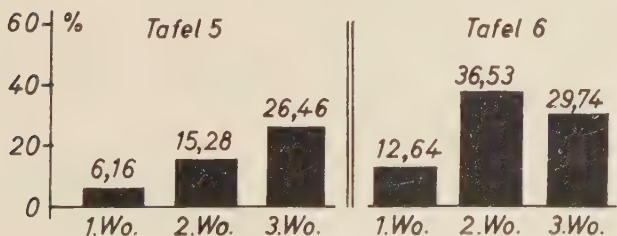
Die Kurven in Figur 3 und 4 geben die Sterinresorption des Einzeltieres für 7 Tage in mg in Abhängigkeit vom Sterinangebot wieder.

Zur Frage der Digitonin-Fällung

Wir bestimmten den Sterin-Gehalt des Kotes der Einzeltiere nicht nur nach Tschugaeff [19], sondern

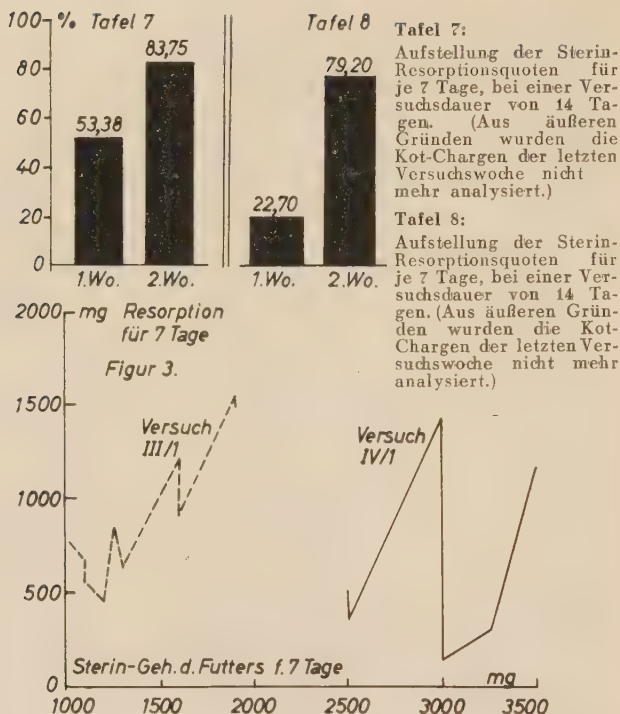
Tab. 4

		Leber- Sterin mg %	Leber- Fett %	Serum- Sterin mg %	Futter- Sterin mg	Kot- Sterin mg	Resorp- tion %
1. Versuch:							
Grundfutter,		681,44	26,88	88,70	1610,00	1400,03	12,95
2% β -Sitosterin,	m.S.	66,80	6,97	16,64			11,88
1% Cholesterin	m.F.	22,30	3,12	5,88			2,48
20% Palmin							
2. Versuch:							
Grundfutter,		489,00	33,64	82,66	2966,67	2275,167	23,40
4% β -Sitosterin,	m.S.	102,40	5,12	12,60			12,48
1% Cholesterin,	m.F.	34,15	2,29	4,45			2,40
20% Palmin							
3. Versuch:							
Grundfutter,		318,04	35,28	99,02	845,00	240,983	71,50
1% β -Sitosterin,	m.S.	68,00	8,78	33,33			16,85
0,5% Cholesterin,	m.F.	30,04	3,93	16,69			4,35
20% Palmin							
4. Versuch:							
Grundfutter,		493,06	26,27	84,48	293,598	672,00	56,30
1% β -Sitosterin,	m.S.	101,00	8,21	15,37			28,40
0,2% Cholesterin,	m.F.	43,15	3,68	6,87			7,87
20% Palmin							
1. Kontrollversuch:							
Grundfutter,		485,50	26,28	115,16			
20% Palmin	m.S.	129,00	6,79	21,05			
	m.F.	40,80	3,04	7,44			
2. Kontrollversuch:							
Grundfutter,		307,58	29,70	104,00			
20% Palmin	m.S.	113,70	9,80	22,30			
	m.F.	56,85	4,90	11,15			



Tafel 5: Aufstellung der Sterin-Resorptionsquoten für je 7 Tage, bei einer Versuchsdauer von 21 Tagen.

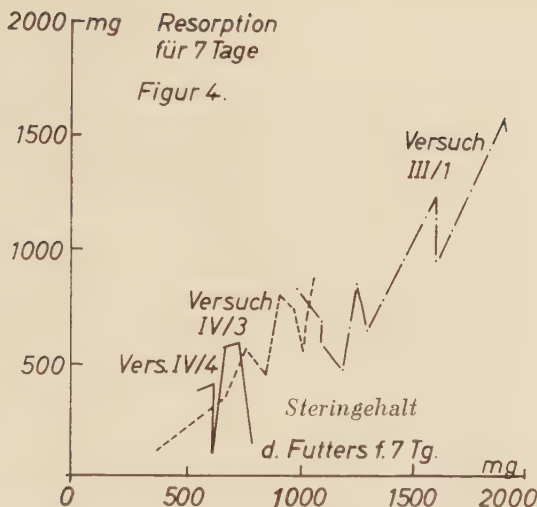
Tafel 6: Aufstellung der Sterin-Resorptionsquoten für je 7 Tage, bei einer Versuchsdauer von 21 Tagen.



auch nach der üblichen Digitonin-Fällungsmethode nach Windaus-Authenrieth. Da man mit dieser Methode neben der ungesättigten (Cholesterin und Sitosterin) auch die gesättigten Sterine bestimmt, lagen die Werte wesentlich höher. Die Sterin-Ausbeute bei der Tschugaeff-Reaktion betrug im Durchschnitt 60–70% der fällbaren Gesamtsterine (gesättigte und ungesättigte Sterine nach Windaus-Authenrieth).

Kritik der Ergebnisse

Allen Sterin-Resorptionsversuchen haften verschiedene Fehlermöglichkeiten an. Die eine ist durch die Möglichkeit der enteralen Veränderung des zugeführten Sterins gegeben. Von der Darmzelle oder den Darmbakterien können Veränderungen des Sterin-Gerüsts herbeigeführt werden, die eine Erfassung durch die verwendete analytische Technik vereiteln. Andererseits sind Cholesterin und Sitosterin mit den bisher



Versuch IV/3:
Grundfutter, 1% β -Sitosterin,
0,5% Cholesterin, 20% Palmin.

Versuch IV/4:
Grundfutter, 1% β -Sitosterin,
0,2% Cholesterin, 20% Palmin

üblichen chemischen oder physikalischen Verfahren nicht voneinander zu trennen, so daß die von uns ermittelten Werte „Sterin-Bilanzen“ und keine „Sitosterin-Bilanzen“ darstellen. Da allerdings die Leerwerte der Sterin-Ausscheidung unter unseren Versuchsbedingungen von uns ermittelt wurden, läßt sich dieser Unsicherheitsfaktor zu einem wesentlichen Teil eliminieren.

Aus all diesen Gründen möchten wir, wenn wir von Sterin-Resorption sprechen, diese (dem angloamerikanischen Sprachgebrauch folgend) als „scheinbare“ Resorption deklarieren.

Diskussion

Die vorgelegten Ergebnisse haben gezeigt, daß bei Verfütterung von emulgiertem und kristallinem Sitosterin in einer an Fett und Kohlehydraten reichen und an Eiweiß armen Diät (hypolipotrope Diät nach Best [28]) eine wesentliche Sterin-Menge im Kot nicht wiedergefunden werden konnte. Der Sterin-Spiegel im Serum der mit Sitosterin gefütterten Tiere lag bei Versuchsende deutlich höher als der der Kontrollgruppen. Der Sterin-Gehalt der Leber hingegen war bei diesen Tieren deutlich niedriger, als bei den Kontrolltieren. Die Cholesterin-Resorption wurde durch gleichzeitige Sitosterin-Applikation, gemessen an der gesamten

Sterin-Ausscheidung, nicht meßbar eingeschränkt. Diese Ergebnisse bedürfen in verschiedenen Punkten der Diskussion.

Von nahezu allen Autoren wurde bisher die Nicht-Resorbierbarkeit der Phytosterine auf Grund der Versuche von Schönheimer [14] stillschweigend übernommen. Insbesondere Peterson führte dafür die Hemmung der Cholesterinesterase durch Phytosterine im Darm als vermutliche Ursache an. Da aber die Veresterung der Sterine einen wesentlichen Schritt bei der Sterin-Resorption darstellt, sollte dadurch die Nicht-Resorbierbarkeit der Phytosterine erklärt werden. Nachdem aber Swell [29] zeigen konnte, daß Sitosterin von Darmschleimhaut-Präparationen ebenso gut verestert wird wie Cholesterin, kann die Hypothese der Cholesterinesterasen-Hemmung nicht mehr aufrechterhalten werden. Auf den wahren Sachverhalt weisen die Untersuchungen von Davis [12] hin. Sitosterin unterscheidet sich vom Cholesterin durch die schlechte Löslichkeit in Methanol; diese schlechte Löslichkeit gilt auch für andere Lösungsmittel und offenbar auch für den Darmsaft (Chymus). Durch Untersuchungen am Menschen konnten wir zeigen, daß die scheinbare Resorption von emulgiertem Cholesterin, Stigmasterin und Sitosterin gleich gut zu etwa 55% erfolgt [30]. Die bisher gefundenen Unterschiede in der Resorption von Cholesterin und kristallinen Phytosterinen beruhen demnach darauf, daß die Phytosterine im Chymus schlechter löslich sind. Bietet man sie von vornherein in einer Mikroemulsion an, so werden sie wie Cholesterin resorbiert. Die Zunahme des Sterin-Gehaltes im Serum nach Sitosterin-Zufuhr möchten wir auf resorbiertes Sitosterin zurückführen. Curran u. Costello [31] sahen ebenfalls eine geringe Phytosterin-Resorption, wie auch Swell unsere Ergebnisse bestätigt [32]. Das Verhalten der Cholesterin-Werte in der Leber nach Sitosterin-Zufuhr ist besonders interessant, weil wir mit einem neuen tierexperimentellen Modell (Cholesterin-Fettleber) Aussagen über die Cholesterin-Synthese machen können.

Wir verwendeten dafür eine diätetische Fettleber mit Zusatz besonderer Fette, weil wir gesehen haben, daß der Sterin-Gehalt neben der Verfettung nach Verfütterung verschiedener Fette zwar unterschiedlich reagiert, nach Olivenöl und Maiskeimöl aber besonders hohe Werte erreicht [33]. Andere Fette, wie Butter und gehärtetes Kokosfett bewirken diese Fettanhäufung nicht. Diese nach Verfütterung von Olivenöl auftretende Cholesterin-Vermehrung in der Leber, bei der lediglich die Cholesterin-Fraktion zunimmt, kann verschiedene Ursachen haben:

1. Wäre es möglich, daß parallel mit der Fettvermehrung auch eine Cholesterin-Anreicherung erfolgt. Diese Möglichkeit wird dadurch ausgeschlossen, daß es bei extremen Verfettungen mit anderen Fetten (Butter, Palmin) zu keiner besonderen Vermehrung des Cholesterins kommt.
2. Könnte es zu einer Änderung der Cholesterin-Verteilung im Ganztier kommen. Diese Möglichkeit können wir nicht sicher ausschließen, weil der Restkörper der Tiere nicht aufgearbeitet wurde. In den bisher an der Fettleber der Ratte ausgeführten Untersuchungen hat sich aber gezeigt, daß die Cholesterin-Abgabe an das Serum und den Darm (wie Galle) mit der Verfettung stark abnimmt, so daß eine Verteilungsänderung sehr unwahrscheinlich ist. Unsere Untersuchungen mit Acetylierungshemmstoffen, die insbesondere die Cholesterin-Synthese senken, wie α -Phenylbuttersäure und Diphenylbuttersäure zeigen einen so deutlichen Abfall des Cholesterin-Gehaltes der Leber, so daß wir daraus auf eine Minderung der Cholesterin-Synthese schließen möchten, die nach alleiniger Zufuhr von Olivenöl oder Maiskeimöl gesteigert ist.

Demzufolge möchten wir unseren Befund des nach Sitosterin- und Olivenöl-Zufuhr verringerten Cholesterin-Gehaltes der Leber dahin auslegen, daß Sitosterin als Strukturanaloges des Cholesterins die Cholesterin-Synthese in der Leber hemmt. Das kann sich nur deswegen in einer Senkung der Sterin-Konzentration ausdrücken, weil Sitosterin eine kürzere Halbwertszeit als Cholesterin hat (Gould [17]). In kurzfristigen Fütterungsversuchen sah Gould [17] keine Minderung der Cholesterin-Synthese in der Leber aus markiertem Acetat. Das ist deswegen nicht verwunderlich, weil die Versuchsdauer zu kurz war und die von ihm mit 8% bestimmte Resorption viel zu klein ist, um einen Effekt erwarten zu können.

Der endgültige Beweis der Hemmung der Cholesterin-Synthese durch Sitosterin ist durch diese Versuchsanordnung allerdings noch nicht geliefert. Immerhin muß Sitosterin von der Leber abgebaut werden; denn die Sterin-Bilanz ist negativ.

Die Behinderung der Cholesterin-Resorption durch Sitosterin scheint nach unseren Ergebnissen völlig unspezifisch zu sein. Kleine Mengen Sterin werden gut, große Mengen werden schlecht resorbiert, gleichgültig welches Mischungsverhältnis von Cholesterin und Sitosterin vorliegt. Es besteht offenbar eine Grenze für die Sterin-Resorption, die auch von Ivy [11] festgestellt wurde. Sie liegt für die Ratte bei 100 mg/100 g Körpergewicht/Tag. Mögliche Unterschiede in der Re-

sorption von Phyto- und Cholesterin dürften in den Unterschieden der Löslichkeit bedingt sein. Ob darüber hinaus die von Davis [12] beschriebene Mischkristallbildung im Darm eine Rolle spielt, kann auf Grund unserer Ergebnisse nicht entschieden werden.

Zusammenfassung

Die vorgelegten Ergebnisse zeigen, daß Sitosterin von der Ratte zu 50–60% resorbiert wird (gemessen an der Ausscheidung farbgebender Sterine). Die Hemmung der Cholesterin-Resorption durch Phytosterine wird als unspezifisch angesehen, denn die Fähigkeit des Darmes zur Sterin-Aufnahme ist beschränkt. An Hand eines neuen Modelles, der sog. endogenen Cholesterin-Fettleber, wird die Vermutung ausgesprochen, daß Sitosterin die endogene Cholesterin-Synthese hemmt.

Summary

Animal Experiments on the Absorption of β -Sitosterol

The results obtained show that 50–60% of sitosterol applied is absorbed by the rat's organism (as measured by the excretion of chromogenic sterols). The inhibition of cholesterol absorption through phytosterols is regarded as non-specific, the capacity of the intestine to absorb sterols being limited. In view of the results obtained by a new model preparation, the so-called cholesterol fatty liver, the possibility is discussed, that the endogenous cholesterol synthesis is inhibited by sitosterol.

Literatur

- [1] Peterson, D. W. u. Shneour, E. A., Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 78, 143 (1953)
- [2] Peterson, D. W., Shneour, E. A., Peek, N. F. u. Gaffey, H. W., Journ. Nutr. 50, 191 (1953)
- [3] Siperstein, M. D., Nichols, C. W. u. Chaikoff, I. L., Circulation 7, 37 (1953)
- [4] Peterson, D. W., Shneour, E. A. u. Peek, N. F., Nutr. 53, 451 (1954)
- [5] Peterson, D. W., Nichols, C. W. jr., Shneour, E. A., Nutr. 47, 57 (1952)
- [6] Clarkson, T. B., King, J. S., Warnock, N. H., Circ. Res. 4, 54 (1956)
- [7] Farquhar, J. W., Smith, R. E. u. Dempsey, M. E., Circulation 14, 77 (1956)
- [8] Pollak, O. J., Circulation 7, 696, 702 (1953)
- [9] Joyner, D. jr. u. Kuo, P. T., Am. U. Med. Sci. 230, 636 (1956)
- [10] Best, C. H. u. Duncan, C. H., Ann. Int. Med. 45, 614 (1956)
- [11] Ivy, A. C., Tsung-Min Lin u. Karvinen, E., Am. J. Physiol. 183, 86 (1955)
- [12] Davis, W. W., Transact. New York Acad. Sci. Ser. II, 18, 123 (1955)
- [13] Daskalakis, E. G., Chaikoff, I. L., Arch. Biochem. Biophys. 58, Nr. 2 (1955)
- [14] Schönheimer, R. u. Yvasa, J., Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chem. 180, 1 (1929)
- [15] Cook, R. P., Proc. Nutr. Soc. 15, Nr. 41 (1956)

- [16] Windaus, A., Chem. Ber. 42 (1909)
- [17] Gould, R. G., Transact. New York Acad. Scien. Ser. II 18, 129 (1955)
- [18] Swell, L., Treadwell, C. R., Journ. Nutr. 58, Nr. 3 (1956)
- [19] Tschugaeff, L., Gasteff, A., Ber. Dtsch. chem. Ges. 42, 4651 (1909)
- [20] Schön, H., Gey, F., Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chem. 305, 81 (1956)
- [21] Sperry, W. M., J. biol. Chem. 209, 377 (1954)
- [22] Zlatkis, A., J. Lab. Clin. Med. 41, 486 (1953)
- [23] Cottet, J., Mathivat, A. u. Redel, J., Presse Méd. 62, 959 (1954)
- [24] Cottet, J. u. Redel, J., C. R. Acad. Science 236, 2553 (1953)
- [25] Gavattini, S., Morpurgo, C., Murelli, B. Paoletti, R. u. Passerini, N., Arch. int. Pharmacodyn. 109, 400 (1957)
- [26] Gavattini, S., Morpurgo, C. u. Passerini, N., Experientia (Basel) 12, 547 (1956)
- [27] Byers, S. O., Friedman, M. u. Rosenman, R. H., Metabolism. Vol. I (1952)
- [28] Best, C. H., Hartroft, W. S., Lucas, C. C., Rindout, J. H., Brit. Med. J. I, 1495 (1953)
- [29] Swell, L., Byron, J. E., Treadwell, C. R., J. biol. Chem. 186, 545 (1950)
- [30] Schön, H., Nature (im Druck)
- [31] Curran, C. L., Costello, R. L., Proc. Soc. exptl. Biol. Med. 91, 52 (1956)
- [32] Swell, L., Trout jr., E. C., Vahouny, G. V., Field jr., H., v. Schuching, S. u. Treadwell, C. R., Proc. Soc. exptl. Biol. Med. 97, 337 (1958)
- [33] Schön, H., Med. Klin. 1394 (1959)

Verantwortlich für die Redaktion: Dr. W. Saenger. Verlag: Editio Cantor, Aulendorf i. Württ., Telefon 451; Druck: Vereinigte Buchdruckereien, A. Sandmaier & Sohn, Buchau a.F.

Bezugsbedingungen: Die Zeitschrift erscheint monatlich einmal. Sie kann vom Verlag oder durch eine Buchhandlung bezogen werden. Der Bezugspreis beträgt im Abonnement pro Quartal (3 Hefte) 14,— DM einschl. Versandkosten. Das Einzelheft kostet 5,— DM zuzügl. Versandkosten. Kostenlose Probehefte liefert der Verlag auf Anforderung. Auslandsabonnements errechnen sich pro Jahr einschließlich Versand auf der Basis von 15 \$.

LEBENS LAUF

Ich wurde am 25. 1. 1934 in Fürth geboren. Meine Eltern sind der Kaufmann Ernst Engelhardt und seine Ehefrau Maria Engelhardt, geb. Schrank.

Vom Frühjahr 1940 bis September 1944 besuchte ich in Fürth die Volksschule. Anschließend war ich Schüler der Oberrealschule in Fürth und bestand im Juni 1953 die Reifeprüfung.

Vom Wintersemester 1953/54 an studierte ich an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen Medizin. Nach 11 Semestern Studium legte ich am 7. Juli 1959 vor dem Ausschuß für ärztliche Prüfung in Erlangen das medizinische Staatsexamen ab.

